

# 多孔 Nano-dHA/PLA/BCP 复合支架的制备及性能研究

季金苟<sup>1</sup>, 李曦<sup>1</sup>, 周治国<sup>1</sup>, 胡承波<sup>1,2</sup>, 夏之宁<sup>1,3</sup>, 黄锐<sup>3</sup>

(1. 重庆大学 化学化工学院, 重庆 400044; 2. 重庆文理学院 化学与环境科学系, 重庆 402168; 3. 重庆大学 生物工程学院, 重庆 400044)

**摘要:** 为改善常规的多孔聚乳酸/双相钙磷陶瓷 (PLA/BCP) 支架表面亲水性不佳及降解时呈酸性等不足, 采用马弗炉烧结制备的 BCP 多孔支架浸入纳米缺钙羟基磷灰石/聚乳酸 (nano-dHA/PLA) 混悬液后, 真空干燥得到多孔纳米缺钙羟基磷灰石/聚乳酸/双相钙磷陶瓷 (nano-dHA/PLA/BCP) 复合支架, 利用万能测试机测试支架抗压强度, 阿基米德法测定支架孔隙率, 扫描电子显微镜 (SEM) 观察支架表面形貌, 并对其保水率和体外降解过程中 pH 值的变化情况进行了研究. 结果表明: 多孔 nano-dHA/PLA/BCP 复合支架表面粗糙, 保水率和强度均有较大提高, 在磷酸盐缓冲液 (PBS) 浸泡过程中 pH 值下降较慢, 在模拟体液 (SBF) 中浸泡 1 个月后发现较多的类骨磷灰石形成.

**关键词:** 纳米缺钙羟基磷灰石; 聚乳酸; 双相磷酸钙陶瓷; 支架

中图分类号: R318; O53

文献标识码: A

## Preparation and Characterization of Porous Nano-dHA/PLA/BCP Scaffold

Ji Jin-Gou<sup>1</sup>, Li Xi<sup>1</sup>, Zhou Zhi-Guo<sup>1</sup>, Hu Cheng-Bo<sup>1,2</sup>, Xia Zhi-Ning<sup>1,3</sup>, Huang Rui<sup>3</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China; 2. Department of Chemistry and Environment Science, Chongqing University of Arts and Science, Chongqing 402168, China; 3. College of Bioengineer, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

**Abstract:** To improve the hydrophilicity and to avoid sharp pH decrease during the degradation of polylactic acid/biphasic calcium phosphate ceramics (PLA/BCP) scaffold in solution, nano calcium deficient hydroxyapatite/polylactic acid/biphasic calcium phosphate (nano-dHA/PLA/BCP) scaffold was prepared by immersing as-sintered porous BCP scaffold in nano-dHA/PLA mixed solution followed by vacuum drying. The compressive strength of samples was measured by universal test machine. The porosity percentage of samples was investigated by Archimedes method. The surfaces of samples were analyzed by scanning electron microscope (SEM). The water-retention rate and pH value change of the samples incubating in phosphate buffered solution (PBS) were also studied. The results show that the compressive strength and water-retention rate of the nano-dHA/PLA/BCP scaffold with rougher surface are improved. The pH decrease rate of nano-dHA/PLA/BCP scaffold is slower than that of PLA/BCP scaffolds incubating in PBS, and the surfaces have more bone-like apatite formation when incubating in simulated body fluid (SBF).

**Key words:** nano calcium deficient hydroxyapatite; polylactic acid; biphasic calcium phosphate ceramics; scaffold

多孔  $\beta$ -磷酸三钙/羟基磷灰石 ( $\beta$ -tricalcium phosphate/hydroxyapatite,  $\beta$ -TCP/HA) 双相磷酸钙 (Biphasic calcium phosphate, BCP) 生物陶瓷具有优良的骨传导性, 在一定条件下还具有较好的骨诱导性, 因此成为骨组织工程的理想材料之一<sup>[1-3]</sup>. 但单

纯的 BCP 生物陶瓷机械性能不佳、脆性大、对负荷承载性较差, 不能完全适宜于骨组织工程材料的要求.

聚乳酸 (polylactic acid, PLA) 具有良好的生物相容性和生物降解性, 与磷酸钙陶瓷的复合能弥补其机械强度和韧性差的缺点<sup>[4-8]</sup>. 因此, 聚乳酸与磷酸钙

陶瓷的复合成为骨组织工程材料研究的热点. 常规的复合方法是先将磷酸钙坯体烧结成多孔陶瓷,再通过抽滤、干燥等程序将 PLA 与多孔陶瓷复合<sup>[9]</sup>. 通过两者的复合,支架材料的强度和韧性等一般都有明显的提高. 但由于这种复合方法是将 PLA 直接结合在支架的孔隙表面,且由于 PLA 的疏水性,因而这种复合支架对细胞的粘附性能较差;另外,由于 PLA 降解产物呈酸性,将此种材料植入体内后,支架表面的 PLA 首先降解,易引起体内无菌性炎症反应.

研究发现,人体自然骨中的 HA 主要是纳米级羟磷灰石(非化学计量)的羟基磷灰石(nano-dHA)<sup>[10]</sup>,HA 本身具有较好的亲水性,纳米粒子又具有高比表面积、高表面自由能和好的溶解性能. 如果先用 nano-dHA 粒子填充于 PLA 中,再与多孔 BCP 支架复合,有望提高支架表面的亲水性并获得较优的增强增韧效果;另外,利用 nano-dHA 较优的溶解性能,有望中和因 PLA 降解产生的酸性.

本工作先用 nano-dHA 与 PLA 混合,再将此混悬液复合到多孔 BCP 支架的孔隙表面,得到了多孔 nano-dHA/PLA/BCP 复合支架,并对所制备的支架的抗压强度、保水率、表面形貌及降解过程中的 pH 值变化情况等进行了研究.

# 1 实验

## 1.1 BCP 支架的制备

按 nano-dHA 粉料:4wt% 的聚乙烯醇 = 1.0:0.3; nano-dHA 粉料:球形硬脂酸致孔剂 = 1.0:0.4~0.6 的比例,先将 4% 聚乙烯醇粘合剂加入到球形硬脂酸致孔剂中混合,再加入按文献<sup>[11]</sup>制备的 nano-dHA 粉末,混匀. 将上述混匀后的粉体在自制模具中以 60MPa 压制成型,坯体在室温风干 24h 后,在 80℃ 烘箱中加热 6h 除去大部分致孔剂,然后放置于马弗炉(KXX-5-12A,上海科析试验仪器厂)中以 6℃/min 速率升温到 400℃,保温 0.5h,除去易挥发物,再以 4~5℃/min 速度升到 1050℃,保温 2.5h,随炉降温.

## 1.2 Nano-dHA/PLA/BCP 复合支架的制备

将新制备的 nano-dHA 洗涤后保持润湿,按比例加入到已充分溶解了 PLA 的溶剂中,超声分散 30min,然后将多孔 BCP 支架在 90kPa 下浸泡在此溶液中,使支架的孔隙中充满溶液,取出支架,离心甩干去掉表面多余液体,真空干燥 24h.

## 1.3 Nano-dHA/PLA/BCP 复合支架的性能测定及表征

保水率  $W_A$  的测定:将复合支架称重( $W_1$ )后浸泡在蒸馏水中,超声处理 20min. 取出后用湿的滤纸

吸去表面挂留的水分后,室温下放置 15min,称重( $W_2$ ). 按照下式计算.

$$W_A(\%) = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100\%$$

抗压强度  $P$  的测定:用 WDW 电子万能试验机进行测量.

孔隙率  $H$  的测定:用阿基米德法进行测定.

表面形貌:用刀片将支架横切,用去离子水超声振荡洗涤数次,50℃ 烘干,再用日本 JSM-64601LV 扫描电子显微镜(SEM)观察横切面.

## 1.4 Nano-dHA/PLA/BCP 复合支架的体外降解实验

复合支架材料按固液比为 1:200 浸泡在 37℃, pH=7.35 的磷酸盐缓冲液(PBS)中,观察溶液 pH 值随降解时间的关系.

复合支架材料按固液比为 1:200 浸泡在 37℃ 的模拟体液(SBF)中,每隔 2d 更换 SBF,1 个月后用 SEM 观察类骨磷灰石的形成情况.

# 2 结果与讨论

## 2.1 PLA 溶解溶剂的选择

Nano-dHA 在 PLA 中的分散情况很大程度上决定了复合支架的性能. 纳米材料本身具有较大表面能,在陈化和干燥过程中容易团聚,加之 PLA 与 nano-dHA 之间结合性能较差,干燥的 nano-dHA 在 PLA 溶液中分散均匀较难. 因此,实验使用润湿的 nano-dHA 与先前溶解好的 PLA 溶液混合. 为了使润湿的 nano-dHA 均匀地分散在 PLA 溶液中,要选择适当的 PLA 溶解溶剂. 实验分别使用了氯仿、四氢呋喃和 1,4-二氧六环为溶剂,观察 nano-dHA 在 PLA 溶液中的分散和稳定情况,见图 1. 图 1 中 A、B、C 分别为氯仿、四氢呋喃和 1,4-二氧六环作为 PLA 的溶解溶剂,图 1(a)为放置 5min 后的分散情况,图 1(b)为放置 1h 后的分散情况.

从图 1 中可以看出,nano-dHA 在 PLA 的氯仿溶液中分散最差,这可能是由于氯仿与水不相溶的原因. 而在与水互溶性良好的 PLA 四氢呋喃或 1,4-二氧六环的溶液中时,稳定性相对较好. 实验还发现,四氢呋喃溶入少量水后,PLA 在其中的溶解量显著减少,另外,四氢呋喃的挥发性也明显大于 1,4-二氧六环,故本实验选用 1,4-二氧六环作为溶解 PLA 的溶剂,可以使得 nano-dHA 在其中较均匀地分散,为进一步制备表面均匀覆盖 nano-dHA/PLA 的多孔复合支架材料打下良好的基础.

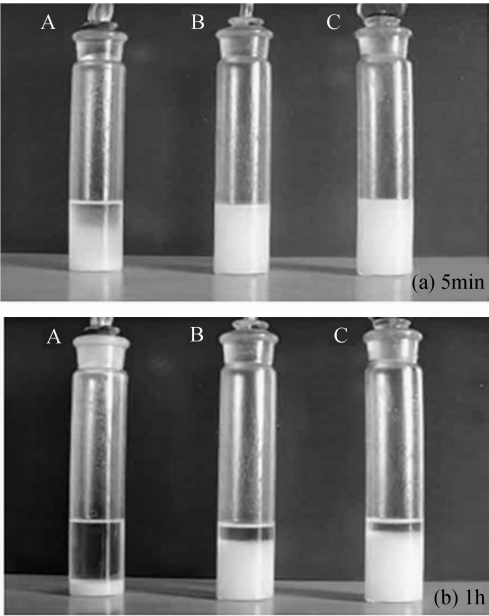


图1 Nano-dHA 在 PLA/氯仿(A)、PLA/四氢呋喃(B)和 PLA /1,4-二氧六环(C)中放置不同时间的分散情况  
Fig.1 Nano-dHA dispersed in PLA/chloroform (A), PLA/THF (B) and PLA/1,4-dioxane (C) for different times

2.2 Nano-dHA/PLA 对支架材料的性能影响

Nano-dHA /PLA/BCP、PLA/BCP 及 BCP 支架的强度和保水率见表 1。从表 1 可以看出,两种复合方式对支架材料的强度均有较大提高,且提高程度相近,孔隙率略有减小。Nano-dHA/PLA/BCP 的保水率尽管比纯 BCP 小,但比 PLA/BCP 明显增加。而且随着 nano-dHA 在 PLA 中的含量增加而略有增加,这可能和 nano-dHA 具有较大的比表面能及较强的亲水性有关。这意味着由于 nano-dHA/PLA/BCP 复合支架材料的保水性改善,其细胞的粘附性能可能更好,因而也更有利于细胞在此材料表面的扩增和增殖。

2.3 Nano-dHA /PLA 对支架材料表面形貌的影响

表 1 Nano- dHA/PLA/BCP、PLA/BCP 和 BCP 支架的性能对比  
Table 1 Properties comparison among nano- dHA/PLA/BCP, PLA/BCP and BCP

Property	BCP	PLA/BCP	Nano-dHA/PLA/BCP	
			dHA: PLA = 1: 9	dHA: PLA = 2: 8
Porosity percentage, H/%	67.96	64.51	64.42	64.40
Water-retention rate, $W_A$ /%	32.99	20.89	25.56	26.01
Compressive strength, $P$ /MPa	3.84	4.19	4.17	4.20

图 2(a) 和 2(b) 分别是 nano-dHA/PLA/BCP 复合支架在不同放大倍数下的 SEM 图片,图 2(c) 和 2(d)是 PLA/BCP 复合支架在相应放大倍数下的 SEM 图片。

从图 2 中可明显看出,在 PLA 中复合有 nano-dHA 的表面比较粗糙,沟槽较多,而在没有复合 nano-dHA 的表面则相对比较平整,这可能是由于相分离所致,在复合有 nano-dHA 的表面,存在着有机相 (PLA) 和无机相 (nano-dHA),在挥发干燥过程中可能发生相分离现象,因而增加了其表面粗糙度。大量的实验表明,表面粗糙的材料表面,更有利于细胞的粘附、定向、迁移、扩增和增殖。

2.4 Nano-dHA/PLA 对支架降解过程中的 pH 影响

图 3 是 nano-dHA/PLA/BCP 与 PLA/BCP 复合支架在 PBS 缓冲液中降解时的 pH 值变化情况。从图 3 中可明显看出,对于 PLA/BCP 复合支架材料,在降解过程中 pH 值下降较大。这显然和 PLA 较易降解有关,由于 PLA 复合于支架材料孔隙表面,PLA 降解后生成乳酸,因而使 PBS 溶液成酸性,如果体内突然聚集大量的酸性物质,可能导致无菌性炎症反应,这对于骨组织重建是不利的;而对于 nano-dHA/PLA/BCP 复合支架,降解过程中 pH 值下降缓慢,这显示 nano-dHA 能有效地中和 PLA 降解过程中产生的乳酸,避免无菌性炎症反应,而这对骨组织的重建是有利的。

比较不同 nano-dHA 含量的复合支架,两者 pH 值下降接近,这可能说明在 nano-dHA/PLA 中, nano-dHA 含量达到 10% 时,就足以有效抵抗由于 PLA 降解所产生的酸性。

2.5 Nano-dHA/PLA 对支架材料在模拟体液中类骨磷灰石生成的影响

图 4(a)、4(b) 分别是 nano-dHA/PLA/BCP 和 PLA/BCP 复合支架在 SBF 中浸泡 1 个月后的 SEM 图片。有文献报道<sup>[12,13]</sup>,钙磷生物陶瓷经 SBF 浸泡后所生成的结晶物不是单纯的 HA,而是含有一定的 B 型碳酸化了的 HA,因其成分与骨的无机成分相似,故称类骨磷灰石。将两种在 SBF 中浸泡了 1 个月后的样品用 SEM 观察,发现对应于 PLA/BCP 复合支架,PLA 基本降解完全,表面几乎看不到类骨磷灰石的生成,见图 4(b);而对应于 nano-dHA/PLA/BCP 复合支架表面,见图 4(a),还基本保持有沟槽结构,同时可以看到有较多的类骨磷灰石生成(见箭头所指),这显然和 PLA 中含有 nano-dHA 有关,当 PLA 溶解后,微酸

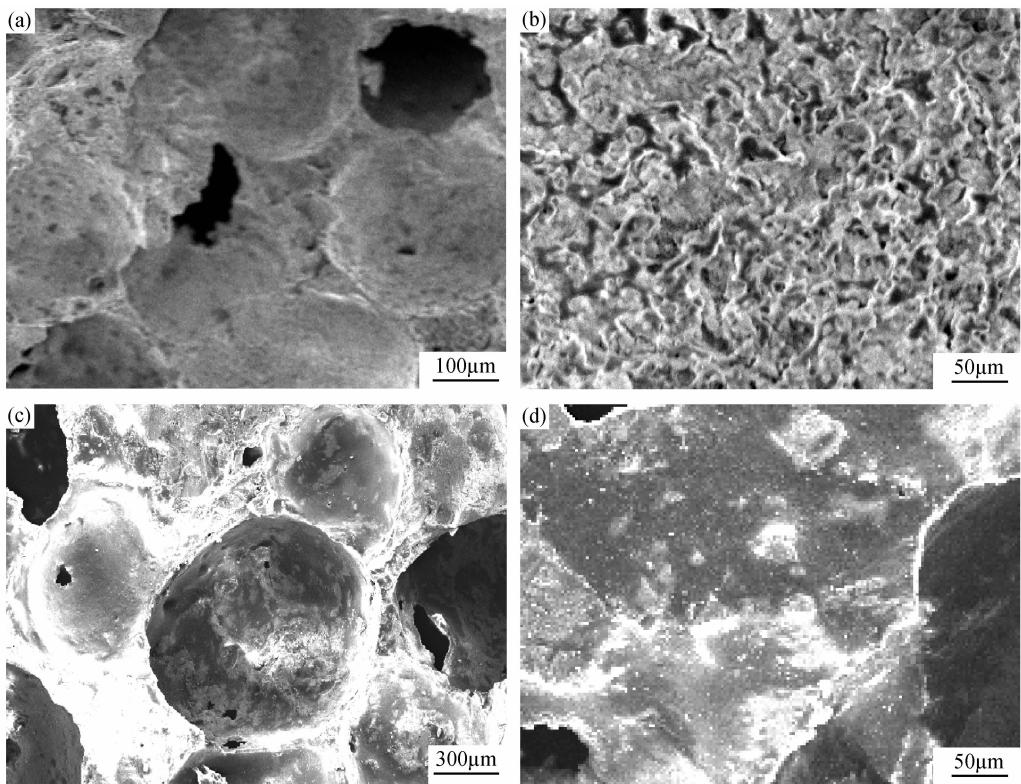


图 2 多孔 nano-dHA/PLA/BCP 和 PLA/BCP 复合支架的扫描电镜图片  
Fig.2 SEM photos of porous nano-dHA/PLA/BCP and PLA/BCP scaffolds  
(a), (b) Nano-dHA/PLA/BCP; (c), (d) PLA/BCP

性环境、材料表面的微沟槽结构及 dHA 的纳米尺寸等都促使 nano-dHA 有较大的溶解度,使局部  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$  浓度升高而形成晶核,进而有利于类骨磷灰石的形成.

de Brunijn 等<sup>[14]</sup>认为,生物材料上类骨磷灰石层的形成是它具有骨诱导性的先决条件,同时,它还在一定程度上可以提供新骨重建的信号. 这表明 nano-dHA/PLA/BCP 复合支架材料是一种更为理想的骨组织工程材料.

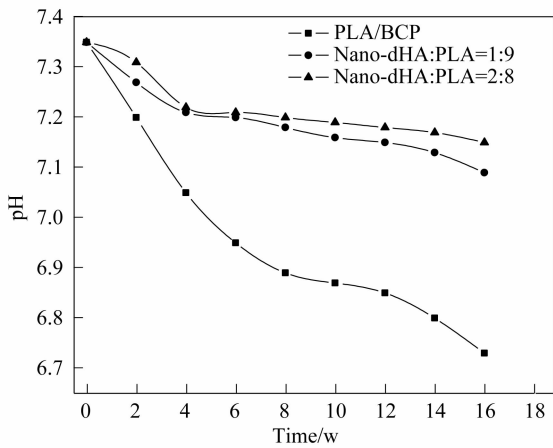


图 3 pH 值随支架材料降解时间的变化  
Fig.3 Variation of pH value in PBS with degradation time

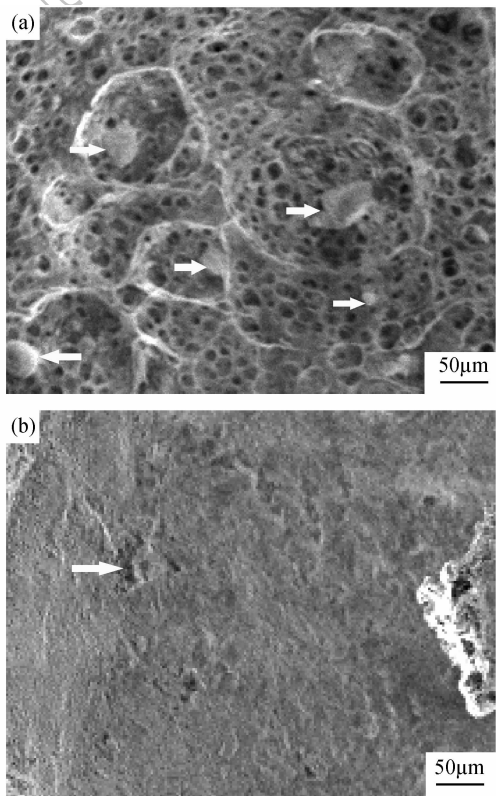


图 4 Nano-dHA/PLA/BCP (a) 和 PLA/BCP (b) 多孔支架在 SBF 中浸泡 1 个月后的扫描电镜图片  
Fig.4 SEM photos of porous nano-dHA/PLA/BCP (a) and PLA/BCP (b) scaffolds after incubation in SBF for 1 month

### 3 结论

1) 用 nano-dHA/PLA 复合 BCP 支架材料,能使 BCP 支架材料的强度得到较大提高,而孔隙率和孔隙结构基本不变.

2) Nano-dHA/PLA/BCP 复合支架相比于 PLA/BCP 复合支架,其保水率得到了明显改善,因而可能更有利于细胞的粘附.

3) SEM 图像显示,用 nano-dHA/PLA 复合 BCP 支架材料,孔隙表面粗糙,微沟槽增多,可能更有利于细胞的定向、增殖和分化.

4) 体外降解实验表明,在 PLA 中混有 nano-dHA,使复合支架材料具有一定的自缓冲性能,也更有利于类骨磷灰石的形成,将是一种更为理想的骨组织工程材料.

#### 参考文献:

[1] LeGeros R Z, Lin S, Rohanizadeh R, *et al.* *J. Mater. Sci. : Mater. Med.*, 2003, **14**(3):201-209.

[2] Wang X L, Fan H S, Xiao Y M, *et al.* *Mater. Lett.*, 2006, **60**(4): 455-458.

[3] 傅小妮,季金苟,冉均国,等. 化工进展,2004,**23**(2):158-161.

[4] Li J, Lu X L, Zheng Y F. *Appl. Surf. Sci.*, 2008, **255**(6):494-497.

[5] Lin P L, Fang H W, Tseng T, *et al.* *Mater. Lett.*, 2007, **61**(14-15): 3009-3013.

[6] Rezwan K, Chen Q Z, Blaker J J, *et al.* *Biomater.*, 2006, **27**(18): 3413-3431.

[7] Xiao Y M, Li D X, Fan H S. *Mater. Lett.*, 2007, **61**(1):59-62.

[8] Guan L M, Davies J E. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2004, **71A**(3): 480-487.

[9] Tian T, Jiang D L, Zhang J X, *et al.* *Mater. Sci. Eng. C*, 2008, **28**(1):51-56.

[10] Constantz B R, Ison I C, Fulmer M T, *et al.* *Science*, 1995, **267**(5205):1796-1798.

[11] Chen S, Ji J G, Xu Y, *et al.* *Key Eng. Mater.*, 2008, **368-372**(PART 2):1178-1180.

[12] 段友容,王朝元,陈继镛,等(DUAN You-Rong, *et al.*). 无机材料学报(Journal of Inorganic Materials),2002,**16**(7):1239-1244.

[13] Elena I D, Sergey V D. *Colloids Surf. A*, 2002, **210**(1): 41-48.

[14] de Bruijn J D, Yuan H, Dekker R, *et al.* In: Davies JE, editor. Bone Engineering, Toronto, Canada: em squared Inc., 2000: 421-431.